Traducido del inglés al español - www.onlinedoctranslator.com

Revista Internacional de Biología del Desarrollo 56:39-48
Documento: 10.1387/ijdb.113442jm

THE INTERNATIONAL JOURNAL OF DEVELOPMENTAL BIOLOGY
www.intjdevbiol.com

La embriología de las planarias en la era de la biología comparada del desarrollo

JOSÉ M. MARTÍN-DURÁN, FRANCISCO MONJO y RAFAEL ROMERO*

Universitat de Barcelona, Departamento de Genética, Barcelona, España

RESUMEN Durante la última década, el campo de la biología evolutiva del desarrollo *(evo-devo)* ha emergido como una disciplina de investigación importante en la biología moderna y un enfoque esencial para comprender las relaciones evolutivas en el reino animal. Al mismo tiempo, las planarias se han convertido en un modelo útil e importante con el que abordar preguntas básicas sobre la base molecular y celular de la regeneración, la reparación de tejidos y las células madre en organismos adultos. Sin embargo, se ha prestado poca atención a su desarrollo embrionario, a pesar de que esto proporciona una oportunidad única para estudiar cómo se redistribuyen los mecanismos de desarrollo molecular durante la regeneración adulta o las pérdidas independientes de la segmentación espiral que tuvieron lugar en diferentes linajes de lofotrocozoos. En este artículo, revisamos los trabajos más relevantes sobre embriones de planarias desde un punto de vista histórico. Al hacerlo, destacamos las preguntas que han intrigado recurrentemente a los investigadores, la mayoría de las cuales permanecen sin respuesta. Finalmente, presentamos un escenario integral para la embriogénesis de las planarias en un intento de proporcionar una hipótesis comprobable que ayudará a cerrar la brecha entre este modo divergente de desarrollo, la segmentación espiral canónica ancestral y la regeneración de las planarias adultas.

PALABRAS CLAVE: *planaria, embriogénesis, regeneración, evo-devo, gastrulación*

Introducción

El auge de la moderna biología molecular evolutiva del desarrollo puso de relieve la conservación de procesos y genes de desarrollo entre los organismos modelo clásicos. A la luz de las nuevas filogenias moleculares, muchos animales que habían sido desatendidos durante mucho tiempo emergieron como taxones clave en el estudio de la ontogenia y la filogenia de los metazoos. En este escenario, es sorprendente que se haya mostrado poco interés en el desarrollo embrionario de los platelmintos, especialmente considerando que presentan varios rasgos morfológicos (intestino ciego, sistema nervioso centralizado simple, ojo simple, etc.) que los hacen interesantes en el contexto de la comprensión de la evolución animal. Los tricládidos, comúnmente denominados planarias, han sido el grupo de platelmintos mejor estudiado, en particular debido a sus asombrosas capacidades regenerativas en la edad adulta.

Las planarias son organismos de vida libre que se encuentran en hábitats marinos, de agua dulce y terrestres. Son gusanos bilaterales, con un cuerpo alargado anteroposteriormente y aplanado dorsoventralmente, que puede medir desde unos pocos milímetros hasta varios centímetros de largo. La especie modelo ***Schmidtea polycroa*** (Fig. 1A) es un habitante típico y abundante de ríos y lagos de Europa, mide alrededor de un centímetro de largo, tiene una coloración marrón oscura y presenta reproducción sexual. Su anatomía macroscópica consiste en una cabeza con un par de ojos y órganos sensoriales (aurículas) en la parte anterior del cuerpo, una faringe en la región central y un aparato copulador posterior.

En general, las planarias que se reproducen sexualmente son hermafroditas. El sistema reproductor está formado por una gónada masculina y una femenina (testículo y ovarios, respectivamente) y el aparato copulador. Todos estos componentes, incluidas las células germinales, se desarrollan a partir de neoblastos (células madre somáticas adultas ubicadas en el parénquima (Shibata ***y otros.,*** 2010)) mediante la epigénesis. La característica más notable de este sistema orgánico es que la gónada femenina es heterocelular, lo que significa que los gametos femeninos y los nutrientes de la yema se producen en órganos diferentes, a saber, los ovarios y las glándulas vitelinas. Por lo tanto, estos dos elementos se segregan en dos tipos celulares diferentes (es decir, ovocitos y células vitelinas). Los huevos con este tipo de organización se denominan huevos ectolecíticos. Después del apareamiento, varios ovocitos fecundados y múltiples células vitelinas se reúnen en el atrio del aparato copulador y se protegen con una cáscara dura y oscura. Luego, esta cápsula de huevos se deposita y se fija al suelo mediante un pedúnculo (Fig. 1B).

Como platelmintos, las planarias pertenecen al superfilo Spiralia (***En sentido*** Giribet ***y otros.,*** 2000), que incluye todos los organismos en los que la segmentación en cuarteto espiral es el modo ancestral de desarrollo (Fig. 1C). Los platelmintos se dividían históricamente en dos grupos principales, según la organización del huevo: Archoophora, un grupo parafilético compuesto por los más basales

*** Dirigir correspondencia a:** Rafa Romero. Universitat de Barcelona, Departamento de Genética, Avda. Diagonal 643, E-08028 Barcelona, España. Teléfono: +34-934-035301 . Fax: +34-934-034420 . correo electrónico: rromero@ub.edu

Versión final en formato PDF corregida por el autor y publicada en línea: 16 de marzo de 2012

ISSN: En línea 1696-3547 , Impreso 0214-6282
© 2012 UBC Press
Impreso en España

grupos, con cigotos endolecíticos que exhiben la división cuartetoespiral ancestral; y Neoophora, un clado monofilético compuesto por todos los grupos de platelmintos con huevos ectolecíticos y gónadas femeninas heterocelulares (Fig. 1D) (Westblad, 1948). Por lo tanto, las planarias pertenecen a este último. La presencia de vitelo fuera del cigoto, y por lo tanto del embrión, restringe el desarrollo. Se han desarrollado diferentes estrategias para garantizar que los nutrientes terminen finalmente dentro del embrión en desarrollo en los platelmintos neoóforos, y la estrategia exhibida por las planarias es una de las más impresionantes.

El estudio de la embriogénesis planaria

La brecha en el conocimiento y comprensión del desarrollo embrionario de los platelmintos en comparación con lo que se sabe sobre su taxonomía, morfología y capacidad regenerativa es notable. Las razones de esto están directamente relacionadas con la biología y el ciclo de vida de estos organismos: la fecundación es estrictamente interna en la mayoría de las especies; los embriones suelen estar protegidos por cáscaras de huevos duras y oscuras que obstruyen la***en vivo***visualización del desarrollo; y por último, pero no menos importante, los huevos ectolecíticos requieren estrictamente células vitelinas para su desarrollo, lo que dificulta su manipulación (Galleni y Gremigni, 1982). Sin embargo, en contraste con la situación de otros grupos menores de platelmintos, ha habido un flujo más o menos continuo de estudios que abordan el desarrollo embrionario de las planarias desde finales del siglo XIX.

Primeros estudios: los fundamentos

Los primeros informes sobre la embriogénesis de las planarias se remontan a mediados del siglo XIX (Kölliker 1846, Knappert 1865, 1866). A pesar de utilizar técnicas sencillas, describieron algunos de los rasgos básicos del desarrollo embrionario de las planarias. Sin embargo, muchas de sus descripciones no son tan precisas y, en general, se considera que los siguientes autores son los pioneros de la embriología de las planarias: el ruso Elias Metschnikoff (1883), el japonés Isao Iijima (1884) y el francés Paul Hallez (1887). Utilizando las planarias de agua dulce***policroma de schmidte***y ***Dendrocoelum lacteum***Como sistemas modelo, proporcionaron una descripción completa y realista de la embriogénesis de las planarias.

Sus observaciones fueron particularmente minuciosas en las primeras etapas del desarrollo. Ambas especies ponen cápsulas de huevos con varios cigotos, que están rodeados por una gran cantidad de células vitelinas dispuestas en un patrón radial. Poco después de que comience la división, las células vitelinas en contacto directo con cada cigoto se fusionan y forman un sincitio, en el que los blastómeros continuarán dividiéndose (Fig. 2A). Durante esta fase, los blastómeros pierden el contacto y se dispersan dentro del sincitio derivado de la yema debido a la presión creada por más células vitelinas fusionadas (Fig. 2B-C). La división es completa y más o menos igual. Según Hallez (1887) el patrón canónico de cuarteto en espiral es evidente hasta la etapa de 8 células. Sin embargo, esta observación no ha sido confirmada (Mattiesen 1904). Los blastómeros se mueven alrededor del sincitio vitelino hasta que se alcanza un cierto número de blastómeros. En este punto, adoptan una distribución que conduce hasta el establecimiento de las tres capas germinales principales. Algunos de los blastómeros migran al límite exterior del sincitio derivado de la yema, y forman una epidermis primaria delgada y ciliada que corresponde al ectodermo (Metschnikoff 1883, Hallez 1887). Al mismo tiempo, otros blastómeros se agrupan en el centro del sincitio, luego se mueven hacia la periferia y entran en contacto con la epidermis embrionaria (Fig. 2D). Se desarrollan en una faringe embrionaria transitoria (Iijima, 1884; Hallez, 1887), que en su extremo interno está en contacto con un grupo de cuatro células delgadas que encierran una cavidad primaria, el intestino embrionario transitorio. Estas células, junto con la faringe embrionaria, constituyen el endomesodermo del embrión. El resto de los blastómeros permanecen en el sincitio derivado de la yema. Según Metschnikoff (1883) e Iijima (1884) estas células son el mesodermo, mientras que Hallez (1887) se refiere a ellas como células migratorias, y no mesodermo, ya que todos los órganos definitivos se desarrollan a partir de ellas. La epidermis primaria, la faringe embrionaria y las células migratorias comprenden los elementos básicos del embrión transitorio que se alimenta de vitelo (Fig. 2E).

La faringe embrionaria es necesaria para tragar las células vitelinas suministradas por la madre. Como consecuencia, el intestino transitorio se llena de nutrientes, el embrión se hincha y el sincitio original derivado de la yema con los blastómeros restantes se reduce a una fina capa periférica. Después de comer, la faringe embrionaria se cierra y degenera, y los órganos definitivos surgen de las células migratorias (Metschnikoff, 1883; Iijima, 1884; Hallez, 1887). Esta última fase del desarrollo no está tan bien descrita y existen algunas controversias entre los autores. Por ejemplo, mientras que Metschnikoff (1883) afirma que el intestino definitivo surge de algo de yema ingerida

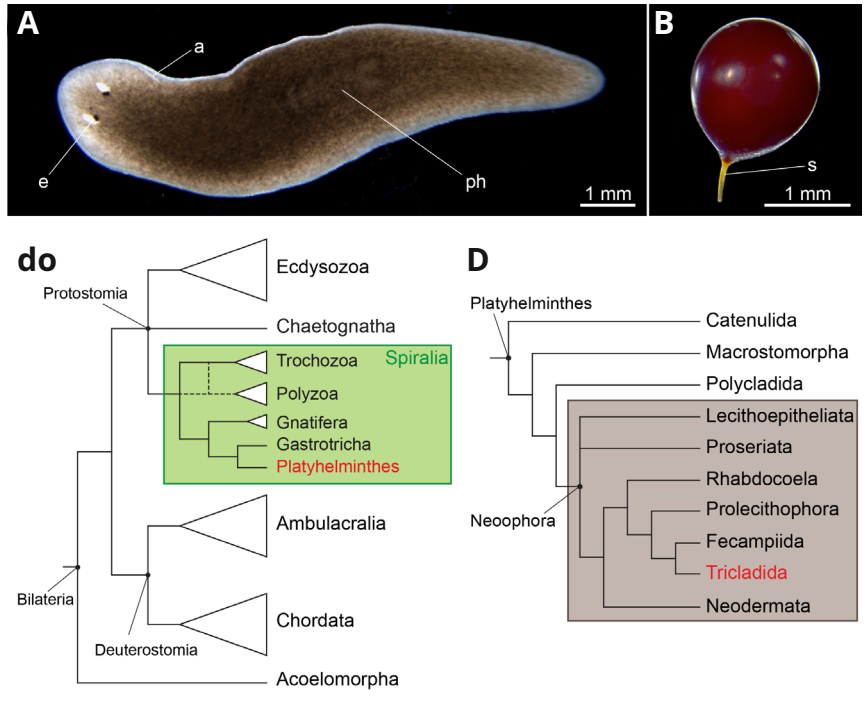

Fig. 1. Morfología general y posición filogenética de las planarias. (A,B)*Aspecto externo de un adulto sexualmente maduro de la especie de agua dulce*Schmidtea policroa, *y una cápsula embrionaria de la misma especie, respectivamente.***(DO)***Posición filogenética del filo Platelmintos dentro de los animales bilaterales, basada en Hejnol*y otros.,*2009 y Hejnol 2010.***(D)***Posición filogenética del orden Tricladida dentro de Platyhelminthes, basada en Littlewood 2008. a aurícula, e ojo, ph faringe, s tallo.*

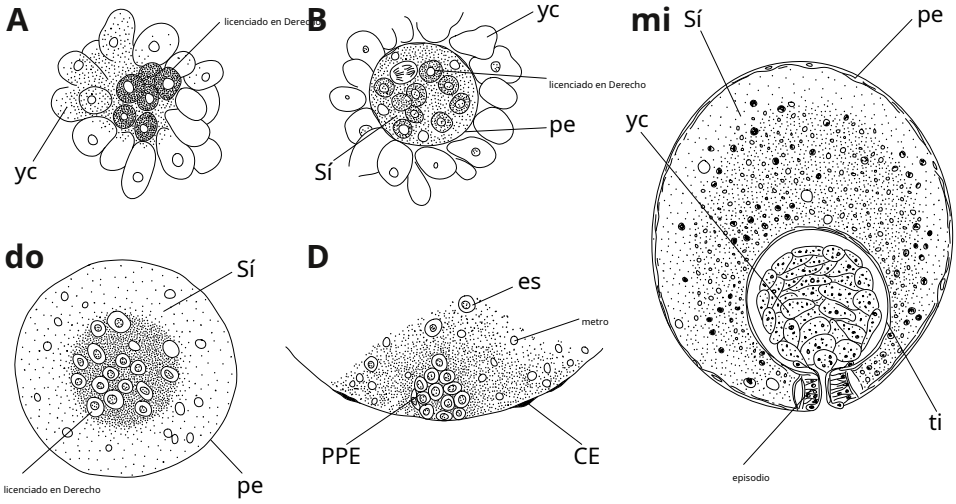

Fig. 2. Desarrollo temprano de las planarias. (A–D) *Escisión, formación del sincitio derivado de la yema y diferenciación temprana de los órganos transitorios del embrión que se alimenta de la yema (basado en Iijima 1884).* **(MI)** *Organización básica del embrión que se alimenta de vitelo al comienzo de la ingestión de las células vitelinas suministradas por la madre (basado en Metschnikoff 1883). Los dibujos no están a escala. bl, blastómeros; ec, ectodermo; ep, faringe embrionaria; epp, primordio de faringe embrionaria; en, endodermo; m, mesodermo; pe, epidermis primaria; ti, intestino temporal; yc, células vitelinas; ys, sincitio derivado de la yema.*

células, Hallez (1887) sostiene que también se forma mediante células migratorias.

Estas primeras descripciones constituyen la base de todos los estudios posteriores sobre la embriogénesis de las planarias. A pesar de que estos autores se ocuparon de un modo de desarrollo divergente, intentaron encontrar un marco comparativo en el que sus observaciones tuvieran sentido, dando así el nombre de ectodermo, mesodermo y endodermo a estructuras relativamente diferentes de las típicas capas germinales.

Primera mitad del siglo XX

El primer trabajo publicado sobre embriones de planarias en el nuevo siglo fue realizado por investigadores estadounidenses (Bardeen 1902, Curtis 1902, 1905, Stevens 1904). Utilizando dos especies de agua dulce americanas, ***Girardia tigrina*** y ***Cura foremanii***. Estos estudios presentan descripciones generales de su desarrollo embrionario (Stevens 1904), pero también se centran en cuestiones particulares relacionadas con la embriogénesis de las planarias, como el origen de los tipos celulares definitivos (Bardeen 1902) y la relación entre la faringe embrionaria y la adulta (Curtis 1902, 1905). Además, el trabajo de Bardeen (1902) fue el primer intento de manipular embriones de planarias para comparar experimentalmente la capacidad regenerativa del embrión y del adulto.

Los datos presentados por estos autores no cambiaron considerablemente el modelo clásico para el desarrollo de las planarias. Sin embargo, su interpretación de las etapas tempranas (es decir, la segmentación y la formación del embrión que se alimenta de vitelo) varió en gran medida. A diferencia de los informes anteriores, estos autores argumentaron que no existe una verdadera segregación de las capas germinales, ya que los órganos definitivos tienen su origen en las células embrionarias migrantes, que de hecho son la única capa germinal verdadera (Stevens 1904). Por lo tanto, las planarias no exhiben una gastrulación real. Esta idea fue aceptada en la mayoría de los estudios posteriores sobre embriones de planarias, aunque debe considerarse una de las preguntas abiertas más importantes con respecto a este modo divergente de desarrollo (discutido más adelante).

De regreso en Europa, Mattiesen (1904) presentó una descripción detallada del desarrollo embrionario de ***Planaria torva*** y reexaminó las observaciones previas de ***D. lacteum*** y ***S. policroa***. Su trabajo planteó interrogantes sobre la polaridad embrionaria y sobre la relación entre la faringe embrionaria transitoria y la faringe definitiva. El autor concluyó que la faringe embrionaria se desarrolla en el lado ventral del embrión y que, tras la ingestión del vitelo, la faringe definitiva se desarrolla en el sitio de la faringe embrionaria (Fig. 3A). Sin embargo, sus colegas estadounidenses contemporáneos asumieron una posición dorsal para la faringe embrionaria, formándose la faringe definitiva en el lado ventral del embrión antes de la desaparición completa de la faringe embrionaria (Fig. 3B) (Curtis 1902, Bardeen 1902, Stevens 1904). Esta controversia provocó un intenso debate (Curtis 1905), y a pesar de que los autores posteriores han tendido a adoptar la interpretación de Mattiesen, la cuestión sigue sin resolverse.

Fulinski (1914, 1916) describió la formación de un blastema embrionario en el que los primordios de los órganos definitivos se originan después de la ingestión de la yema. Este blastema se forma a través de proliferación de las células migratorias, que en su mayoría se acumulan en el lado ventral del embrión. El primario El blastema embrionario se subdivide en tres regiones: un primordio anterior que da origen a la región cefálica y al sistema nervioso central; un primordio central asociado a la faringe embrionaria en degeneración y en el que se formarán la faringe definitiva y el sistema digestivo; y un primordio posterior en el que se diferenciarán las estructuras posteriores, músculos, glándulas y, finalmente, el sistema reproductor (Fig. 4). Varios años después, Fulinski planteó la posibilidad de que la faringe embrionaria de las planarias sea homóloga al blastoporo.

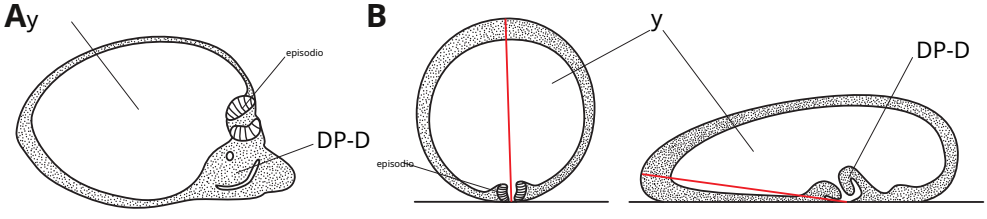

Fig. 3. Hipótesis alternativa sobre la relación entre la faringe embrionaria, la faringe definitiva y las identidades axiales del embrión. (A) *La faringe embrionaria ocupa una posición dorsoposterior cuando comienzan a formarse los órganos definitivos (modificado de Curtis 1902). La faringe definitiva se forma ventralmente y ambas estructuras coexisten durante un tiempo.* **(B)** *La faringe embrionaria se desarrolla en la región ventroposterior del embrión y, tras la ingestión del vitelo, es reemplazada en el mismo lugar por la faringe definitiva (dibujos basados en Hallez 1887). Según esta última hipótesis, la simetría radial del embrión primario es, al mismo tiempo, los futuros ejes anteroposterior y dorsoventral (línea roja en* **B**). *dp faringe definitiva, ep faringe embrionaria, y vitelo.*

de otros platelmintos (Fulinski 1938).

Acconci (1919) también estudió la fertilización, la división y las primeras etapas del desarrollo en ***D. lacteum*** y ***S. policroa*** Carlé (1935) describió por primera vez el desarrollo embrionario de dos planarias terrestres, ***Geoplana notocelis*** y ***Rhynchodemus terrestris*** , demostrando que era similar a lo ya reportado para especies de agua dulce.

Segunda mitad del siglo XX: sistematización

Los primeros estudios de Seilern-Aspang (1956, 1957) caracterizaron el desarrollo embrionario de las especies marinas. ***Procerodes lobata***, confirmando que todos los linajes de planarias muestran rasgos embrionarios similares. En un informe posterior (Seilern-Aspang 1958) el autor abordó con gran detalle la embriogénesis de las planarias, y en particular los mecanismos que operan durante la formación del sincitio derivado de la yema, la segmentación y la organización del embrión transitorio que se alimenta de la yema. Basándose en finas observaciones de embriones tempranos, el autor propuso que el cigoto libera sustancias quimiotácticas para atraer a las células vitelinas circundantes y estimular su fusión en un sincitio antes de que comience la segmentación. Esta idea también había sido propuesta por Acconci (1919), y en 1991 fue sugerida nuevamente por Sakurai, basándose en observaciones de la ultraestructura del cigoto y las células vitelinas durante estas etapas iniciales.

Hasta mediados de la década de 1950, el término utilizado para describir la división y formación del embrión que se alimenta de la yema había sido la frase alemana ***BlastomerenAnarchie***. Sin embargo, Seilern-Aspang (1958) intentó dar una interpretación mecanicista de los movimientos de los blastómeros dentro del sincitio derivado de la yema. Subdividió los blastómeros en tres grupos diferentes: positivos, negativos y neutros. Según su hipótesis, los blastómeros negativos son repelidos hacia la periferia del sincitio derivado de la yema, formando la epidermis embrionaria. Mientras tanto, los blastómeros positivos y neutros permanecen en una posición central. Después, los blastómeros positivos se mueven al extremo del sincitio y se diferencian en la faringe embrionaria, mientras que los blastómeros neutros siguen vagando, convirtiéndose en las llamadas células migratorias. De esta manera, el sincitio primario derivado de la yema se transforma en un embrión radial, con un eje que atraviesa la faringe embrionaria que será el Futuro eje dorsoventral del embrión definitivo. Este modelo fue el punto de partida de estudios posteriores, en particular los de Koscielski (1964, 1966, 1967).

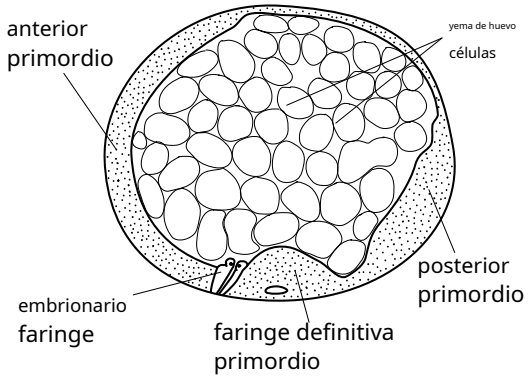

Fig. 4. Formación de los órganos definitivos a partir de un blastema embrionario. *Según Fulinski (1916), los órganos definitivos se forman a partir de tres blastemas principales: un primordio anterior, en el que se desarrolla el sistema nervioso; un primordio central, próximo a la faringe embrionaria y que da origen a la faringe definitiva; y un primordio posterior, que forma todas las estructuras caudales. Las células musculares y el parénquima se desarrollan a partir de células aisladas de los tres blastemas.*

Al mismo tiempo, Skaer (1965) se ocupó de la formación de la epidermis definitiva, demostrando que su origen se encuentra en células indiferenciadas del parénquima embrionario que migran, se intercalan en la epidermis embrionaria en degeneración y se diferencian en células epidérmicas adultas. Este proceso tiene lugar en dos momentos diferentes: justo después de la ingestión de las células del vitelo aportadas por la madre y simultáneamente a la diferenciación de los otros tipos celulares definitivos.

Sin embargo, los estudios más significativos fueron realizados por Albert Le Moigne (1963, 1966, 1969) utilizando especies de agua dulce. ***Policelis negra*** y ***Policelis tenuis*** En ellos, el autor abordó el estudio de la embriogénesis de las planarias empleando técnicas nunca antes utilizadas, en particular el microscopio electrónico de transmisión, que ofrecía nuevos niveles de resolución e información. A partir de sus observaciones, Le Moigne (1963) sistematizó el desarrollo embrionario de las planarias, subdividándolo en siete grandes estadios (Fig. 5). Además, realizó aportes relevantes para comprender la relación entre la embriogénesis y la regeneración adulta, y el origen embrionario de los neoblastos.

Brevemente, las etapas propuestas por Le Moigne (1963, 1966) son:

- Etapa 1: formación del sincitio derivado de la yema y dispersión En su opinión, no existe homología entre las capas germinales típicas de otros metazoos y la segregación de blastómeros en las planarias.
- Etapa 2: aparición de los órganos transitorios (epidermis primaria, faringe embrionaria e intestino transitorio).
- Etapa 3: ingestión de las células vitelinas suministradas por la madre. El sincitio derivado del vitelo queda restringido a la periferia del embrión y forma la denominada banda germinal. Las células embrionarias indiferenciadas de esta fina capa de sincitio comienzan a dividirse.
- Etapa 4: una faringe transitoria, probablemente exclusiva de ***P. negra*** y ***P. tenuis***, se forma en el lugar que ocupaba la faringe embrionaria. Los tipos celulares definitivos (neoblastos, células musculares, células digestivas y secretoras, células de la flama, etc.) comienzan a diferenciarse a partir de las células embrionarias proliferantes de la banda germinal.
- Etapa 5: se forman los dos ganglios cerebrales en la región anterior. Parte ventral del embrión. La faringe definitiva se diferencia justo por encima de la faringe transitoria y se distinguen las ramas digestivas posteriores.
- Etapa 6: el par de cordones nerviosos ventrales comienzan a diferenciarse en una dirección anteroposterior y los ojos se hacen visibles.
- Estadio 7: maduración de los órganos definitivos antes de la eclosión.

Este escenario propuesto por Le Moigne es válido en la actualidad y puede considerarse como la primera descripción moderna del desarrollo divergente de las planarias.

En los años siguientes, los estudios se centraron en aspectos particulares del desarrollo, como la ovogénesis, la fertilización y la formación de la cáscara del huevo (revisada en Benazzi y Gremigni 1982). Finalmente, Ishii y Sakurai (1988), Sakurai e Ishii (1995) y Sakurai (1991) se ocuparon de la formación y reemplazo de la epidermis primaria y el sincitio derivado de la yema. Estos autores sugirieron que la epidermis embrionaria se forma por fusión de un grupo de blastómeros en un lado del sincitio, en el punto en el que se formará la faringe embrionaria. Se pensaba que este órgano era homólogo al blastoporo de otros animales, y la expansión de la epidermis primaria desde este punto para envolver toda la yema

sincitio para ser homólogo a la gastrulación, a través de un proceso conocido como ***epibolia inversa***.

El estudio de la embriología de las planarias en el siglo XXI

A medida que el estudio de la regeneración de las planarias experimentó un renovado interés con el establecimiento de técnicas moleculares modernas (es decir, ***en el lugar*** hibridación, inmunohistoquímica fluorescente, knockdown génico por interferencia de ARN, marcaje de células proliferativas con BrdU, etc.), que abrieron un amplio abanico de nuevas posibilidades en el estudio de este llamativo fenómeno, la necesidad de aplicar estos nuevos métodos moleculares al estudio del desarrollo embrionario de las planarias, con el fin de Se hizo evidente la necesidad de salvar la brecha entre las fases embrionaria y postembrionaria del ciclo de vida de las planarias.

El trabajo realizado por Cardona ***y otros.,*** (2005a,b, 2006) significó la entrada de la embriología de las planarias en la era moderna de la biología molecular del desarrollo. Mediante una combinación de inmunohistoquímica y observaciones bajo microscopio óptico y electrónico, sus estudios ofrecen una descripción detallada del desarrollo embrionario de las especies de planarias. ***Schmidtea polycroa***, en particular de las primeras etapas del desarrollo (Cardona ***y otros.,*** 2006) y la formación de los órganos definitivos (Cardona ***y otros.,*** 2005a). En esta reevaluación del desarrollo de las planarias, la etapa original de Le Moigne

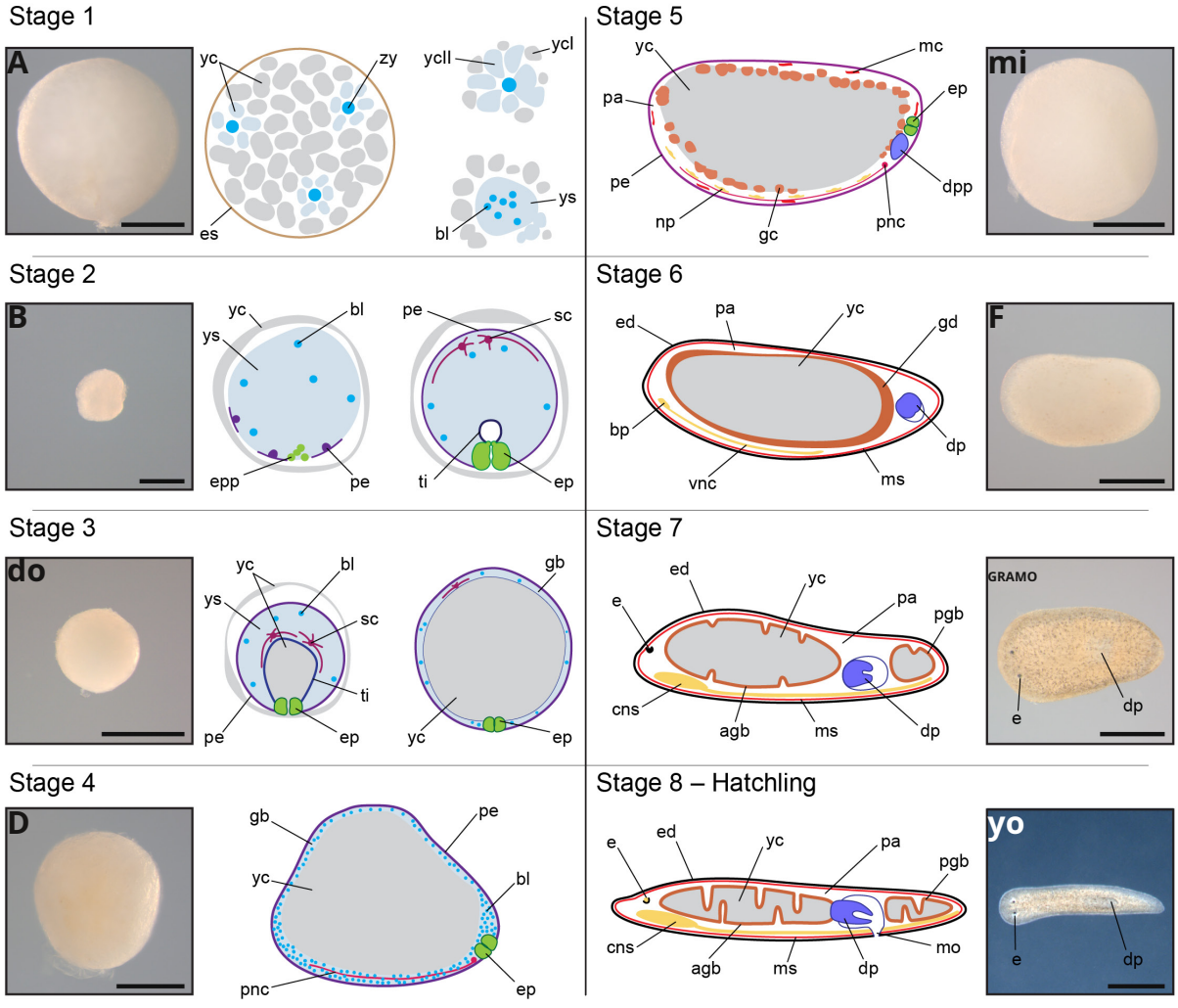

Fig. 5. Panorama general de la embriogénesis de las planarias. (A–H) *Embriones disecados en etapa 1, etapa 2, etapa 3, etapa 4, etapa 5, etapa 6, etapa 7 y cría, respectivamente.* **(A)** *Masa de células vitelinas, en cuyo interior tiene lugar la formación y división del sincitio derivado de la yema.* **(B)** *Embrión temprano que se alimenta de vitelo, con sus estructuras transitorias características (es decir, epidermis primaria, faringe embrionaria, intestino transitorio y células en estrella).* **(DO)** *Debido a la ingestión de células vitelinas, el embrión crece en tamaño y el sincitio inicial derivado de la yema queda restringido a la periferia del embrión, formando la llamada banda germinal.* **(D)** *Los blastómeros en la banda germinal comienzan a proliferar y los cordones nerviosos pioneros se hacen visibles.* **(MI)** *La especificación de las identidades axiales definitivas y la diferenciación de los tipos de células adultas comienzan en la etapa 5, al mismo tiempo que se forma el primordio definitivo de la faringe.* **(F,G)**, *durante las etapas 6 y 7, los órganos definitivos surgen y se desarrollan para adquirir la morfología observada en los embriones y crías de la etapa 8.* **(H)** *Los dibujos no están a escala. Los principales eventos morfológicos e histológicos ilustrados se basan en Le Moigne 1963, Cardona y otros., 2005a, Cardona y otros., 2006, Martín-Durán y otros., 2010 y Martín-Durán y Romero 2011. agb rama intestinal anterior, bl blastómero, bp primordio cerebral, cns sistema nervioso central, dp faringe definitiva, dpp primordio faríngeo definitivo, e ojo, ed epidermis, ep faringe embrionaria, epp primordio faríngeo embrionario, es cáscara de huevo, gb banda germinal, gc célula gastrodérmica, mc célula muscular, mo boca, ms músculo, np precursor neural, pa parénquima, pe epidermis primaria, pgb rama intestinal posterior, pnc cordón nervioso pionero, sc células estrella, ti intestino temporal, vnc cordón nervioso ventral, yc células vitelinas, ycI células vitelinas tipo I, ycII células vitelinas tipo II, ys sincitio vitelino, zy cigoto. –H) anterior está a la izquierda. Barras de escala: (A, C–G) 500metrom; (B) 250metro(alto) 1 mm.*

Los criterios de estadificación (Le Moigne 1963) se adaptaron al sistema de estadificación propuesto por Hartenstein y Ehlers (2000), que se había aplicado con éxito al desarrollo embrionario de otros grupos de platelmintos, y así la embriogénesis de las planarias se dividió en ocho etapas (Fig. 6).

La mayoría de las observaciones realizadas por Cardona ***y otros.,*** (2005a, 2006) confirmaron informes previos sobre el desarrollo embrionario de ***Schmidtea polycroa*** y otros triclads. Sin embargo, el uso de marcadores moleculares específicos (es decir, anticuerpos contra poblaciones neuronales específicas o células musculares, como la serotonina, la amida FMRF o la cadena pesada de miosina) les permitió seguir minuciosamente la aparición de tipos celulares y tejidos específicos. En este sentido, la descripción de la formación del sistema nervioso fue una contribución significativa. Ya en los embriones de etapa 2, un par de células multipolares grandes, conocidas como células estrella, aparecen en la interfaz entre la epidermis embrionaria y la capa vitelina sincitial (Cardona ***y otros.,*** 2005a). A medida que el embrión ingiere la yema, estas células se internalizan y se asocian con el intestino transitorio en crecimiento. Basado principalmente

Por su morfología e inmunorreactividad con tubulina acetilada, tubulina tirosinada y serotonina, estas células fueron interpretadas como el sistema nervioso primario, posiblemente involucrado en el control de los movimientos del embrión necesarios para la ingestión de las células vitelinas suministradas por la madre.

Al igual que otras estructuras transitorias en estas primeras etapas del desarrollo, estas células estrella desaparecen con la formación de los órganos definitivos. La formación de un sistema nervioso definitivo parece estar asociada a la aparición de un par de fibras nerviosas que van desde la faringe embrionaria en degeneración hacia el polo opuesto del embrión. Conocidas como cordones nerviosos pioneros, ocupan la futura cara ventral del embrión sobre la que se construirá el sistema nervioso definitivo durante las etapas 6 y 7. A diferencia de la situación descrita por Le Moigne (1963), el sistema nervioso central se desarrolla más o menos simultáneamente a lo largo del eje anteroposterior, a través de la diferenciación de concentraciones regularmente espaciadas de células neuronales inmunorreactivas FMRF-amida (Cardona ***y otros.,*** 2005a). En la etapa 7, los grupos de células más anteriores forman el pequeño neuropilo.

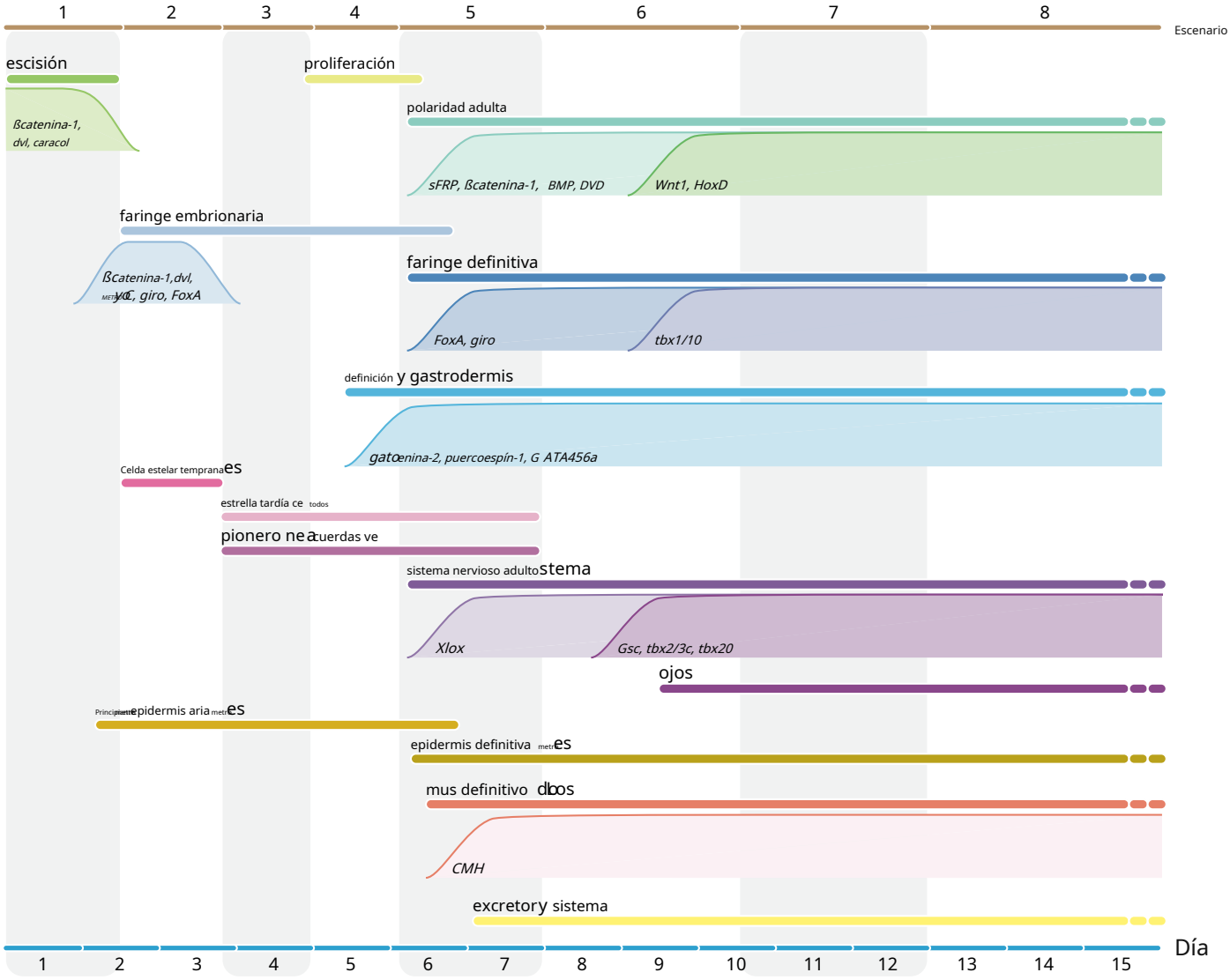

Fig. 6. Visión general del desarrollo embrionario de las planarias. *Resumen de los principales eventos de desarrollo (barras de colores) y la expresión génica asociada (curvas de colores) con respecto a las etapas y días de embriogénesis después de la deposición de la cápsula del óvulo (a 20 °C). El gráfico se basa en Cardona* y otros., *2005a, 2006; Martín-Durán* y otros., *2010 y Martín-Durán y Romero 2011.*

que da lugar al cerebro bilobulado definitivo.

Además de las descripciones morfológicas y moleculares, el trabajo realizado por Cardona ***y otros.,*** (2005a, 2006) dio lugar a una de las interpretaciones más sorprendentes de la embriogénesis de las planarias. El desarrollo de estructuras transitorias (faringe embrionaria, epidermis primaria, células estrelladas) se consideraba parte de una larva críptica (sin una fase de vida libre) necesaria para ingerir el material vitelino suministrado por la madre dentro de la cápsula embrionaria. Los autores sugirieron que este período de desarrollo puede haber evolucionado como consecuencia de la presión selectiva para ingerir una cantidad limitada compartida de nutrientes embrionarios, en última instancia necesarios para lograr un desarrollo exitoso. Cualquiera que sea su origen evolutivo, la idea de las planarias como desarrolladores indirectos fue firmemente defendida por Cardona. ***y otros.,*** (2006), apoyando así visiones alternativas, habitualmente descuidadas (Fulinski 1916, Seilern-Aspang 1958, Koscielski 1967).

Patrones de expresión genética y un enfoque comparativo para el estudio de la embriogénesis de las planarias

Con la optimización de ***en el lugar*** Protocolos de hibridación para visualizar la expresión de genes particulares, ya sea en embriones completos o en secciones de parafina (Cardona ***y otros.,*** 2005b, Martín-Durán ***y otros.,*** 2010), ciertas cuestiones del desarrollo que siempre han atraído la atención podrían considerarse desde un punto de vista comparativo y evolutivo. El reconocimiento de similitudes antiguas en los mecanismos de formación de patrones entre organismos distantemente relacionados permite la comparación directa de los procesos de desarrollo, lo que proporciona nuevos datos para comprender la ontogenia y la filogenia de los metazoos.

La obra de Solana ***y otros.,*** (2009) y Solana y Romero (2009) abordaron la relación entre blastómeros y neoblastos y el origen de estos últimos durante la embriogénesis de ***S. policroa***. La expresión de marcadores de células madre conservados como ***Gen tipo vasa A*** (***vlgA***) y ***Tudor-1*** (***Tud-1***), demostraron que aquellos blastómeros que no contribuyen a la formación de ninguna estructura transitoria en el embrión que se alimenta de vitelo permanecen en un estado indiferenciado durante la ingestión de vitelo (estadios 2-4). A medida que avanza el desarrollo y el embrión adquiere su morfología definitiva, la expresión de estos genes cambia progresivamente a la observada en juveniles y adultos, lo que sugiere que es durante estos estadios que se especifican los neoblastos, como propuso Le Moigne (1966).

En un artículo reciente (Martín-Durán ***y otros.,*** 2010), se utilizó un análisis comparativo de los genes conservados involucrados en el establecimiento del plan corporal de los metazoos para abordar cómo se especifican las identidades axiales y los diferentes destinos celulares durante la embriogénesis de las planarias. La expresión de los componentes centrales de la vía Wnt canónica (*b* ***catenina-1***, ***Wnt1***, ***sFRP***, ***despeinado***) y la vía BMP (***bmp***), conocido por controlar el patrón anteroposterior y dorsoventral en planarias adultas (Cebrià ***y otros.,*** 2010), muestra que la expresión asimétrica de algunos de estos genes a lo largo de los ejes bilaterales del organismo aparece a partir del estadio 5 en adelante, a medida que el embrión adquiere su forma de gusano, se reabsorben los órganos transitorios de alimentación vitelina y se forman las estructuras definitivas (Fig. 6). Durante las primeras etapas, estos genes no se expresan (p. ej. ***bmp***) o no muestran una expresión asimétrica clara en el embrión, con excepción de *b* ***catenina-1***, que queda restringida a la faringe embrionaria después de la segmentación. Estos datos llevaron a los autores a sugerir que la polaridad definitiva se establece tarde en el desarrollo, en la etapa 5, mientras que las etapas tempranas presentan diferentes mecanismos de identidad axial o, más probablemente, carecen de una verdadera axialidad y, por lo tanto, de la radialidad del embrión que se alimenta de la yema. En este sentido y a pesar de la divergencia de

En las etapas iniciales del desarrollo, aún se pueden discernir mecanismos conservados de segregación y especificación de tejidos. Genes como ***girar*** y ***zorroA*** conservan su expresión asociada a la formación del músculo y del intestino anterior, respectivamente (Martín-Durán ***y otros.,*** 2010).

Un enfoque comparativo similar se utilizó para estudiar el desarrollo embrionario del sistema digestivo (Martín-Durán y Romero 2011). A pesar de la importancia evolutiva de las características exhibidas por este órgano en planarias y otros platelmintos (es decir, una única abertura intestinal y, por lo tanto, una gastrodermis ciega), hasta ese momento había sido uno de los menos estudiados debido a las dificultades para teñir y visualizar específicamente las células gastrodérmicas en embriones de planarias. Una combinación de estudios histológicos y análisis de expresión génica demostró que las células gastrodérmicas se especifican durante la etapa 4-5, en un patrón más o menos difuso, dando lugar finalmente a un epitelio endodérmico delgado que rodea la yema ingerida. Después de la eclosión, las células gastrodérmicas ingieren los nutrientes, adquiriendo una morfología madura durante este proceso. El proceso de formación de patrones embrionarios en el sistema digestivo se estudió por medio de marcadores intestinales endodérmicos y anteroposteriores conservados (***zorroA***, ***GATA456***, ***gansoide***, genes para Hox y genes T-box) (Fig. 6). Basándose en sus patrones de expresión, los autores concluyeron que el intestino ciego de las planarias carece de regionalización anteroposterior discernible en el intestino anterior, el intestino medio y el intestino posterior, pero conserva el límite molecular conservado entre la faringe y la gastrodermis que se muestra en ***zorroA*** y ***GATA456*** genes en algunos espiralianos.

Hacia una comprensión más profunda de la embriología de las planarias

El análisis sistemático de los patrones de expresión de los genes maestros de control del desarrollo ha consolidado muchos de los conceptos clásicos sobre la embriogénesis de las planarias que se basaban en estudios morfológicos (Solana ***y otros.,*** 2009, Solana y Romero 2009, Martín-Durán ***y otros.,*** 2010, Martín-Durán y Romero 2011). La participación de la mayoría de estos genes en eventos conservados del desarrollo de los metazoos lleva a que se consideren cuestiones fundamentales desde un punto de vista completamente nuevo. ¿Cuándo y cómo se define la polaridad axial durante el desarrollo divergente de las planarias? ¿Tiene lugar la gastrulación real que define los principales destinos tisulares? ¿Cómo se relaciona la organización transitoria con el plan corporal definitivo? A continuación, abordamos estas preguntas primarias y desarrollamos un escenario integral para la embriogénesis de las planarias en un intento de unificar conceptos y vincular este peculiar modo de desarrollo con la división espiral ancestral y la regeneración de las planarias adultas mejor conocidas.

Establecimiento de identidades axiales

La obra de Martín-Durán ***y otros.,*** (2010) demostraron que la expresión asimétrica de los genes que controlan las identidades axiales a lo largo de los ejes bilaterales ocurre en la etapa 5, cuando comienza la especificación de la mayoría de los tipos de células y órganos definitivos (Le Moigne 1963, Cardona ***y otros.,*** 2005a, Martín-Durán y Romero 2011). Esta observación lleva a preguntarse cómo se organiza el embrión vitelino transitorio y si la axialidad definitiva ya está definida en esta fase temprana, aunque mediante mecanismos distintos a los observados en crías y adultos. En nuestra opinión, hay que tener en cuenta dos características de la embriogénesis de las planarias: la distintiva segmentación dispersa, que distingue

planarias de todos los demás desarrolladores espirales canónicos y la presencia de una organización embrionaria independiente transitoria (es decir, el embrión que se alimenta de la yema).

El desarrollo espiral depende en gran medida de los determinantes maternos y de las interacciones célula-célula para especificar los diferentes linajes celulares y organizadores axiales durante la segmentación (Nielsen 2010). En algunos taxones (algunos anélidos y moluscos, sipuncúlidos), el organizador axial (el cuadrante D y sus descendientes) ya está definido tan temprano como en el embrión de cuatro células. Esto se logra mediante la transmisión de los determinantes maternos presentes en el cigoto a una de las cuatro células a través de divisiones celulares asimétricas y/o la formación de un lóbulo polar (van Dam***y otros.,***1982). Estos embriones se denominan comúnmente espirales de división desigual. Sin embargo, muchos de los linajes espirales son de división igual y, por lo tanto, la división temprana no conduce a la especificación del cuadrante D. En estos embriones, es el proceso de comunicación célula-célula el que establece el organizador embrionario en la etapa de 16 a 32 células, durante la cual uno de los blastómeros vegetales contacta con los micrómeros animales y se especifica como el cuadrante D (van den Biggelaar y Guerrier, 1979). En ambos casos, las moléculas involucradas siguen siendo esquivas. Independientemente del tipo de división, los descendientes del cuadrante D ocuparán una posición dorsoposterior en el embrión y guiarán a los linajes celulares de los cuadrantes A, B y C para formar las regiones izquierda, ventroanterior y derecha del embrión, respectivamente (Freeman y Lundelius 1992). ¿Se conservan estos eventos en la división equitativa dispersa observada en las planarias?

A pesar de que algunos estudios han demostrado una polaridad primaria en el ovocito (Stevens 1904, Benazzi 1950, Anderson y Johann 1958), la mejor señal de determinantes maternos es la presencia de altos niveles de transcripciones de genes como*b****catenina-1***en cápsulas de huevos recién puestos (Martín-Durán***y otros.,***2010). Aunque probable, su localización en el cigoto necesita ser probada. Por otro lado, la existencia de interacciones estereotípicas célula-célula entre ciertos blastómeros es mucho más improbable. La segmentación dispersa exhibida por embriones de planarias parece implicar interacciones débiles e intermitentes entre células, que probablemente varían de un embrión a otro. En embriones espiralianos canónicos, la ausencia de señales inductivas entre células (o la eliminación del lóbulo polar en espiralianos de segmentación desigual) conduce a la formación de un embrión radializado con un eje oral-aboral, que carece del organizador axial, pero gastrula normalmente y por lo tanto forma el ectodermo, el endodermo y un estomodeo (Wilson 1904, Martindale***y otros.,*** 1985). En estos embriones, un número inusual de blastómeros permanecen indiferenciados, debido a la ausencia de un organizador. Esta situación muestra una sorprendente similitud con la de los embriones tempranos de planarias.

Todos estos datos sugieren que los mecanismos alternativos que establecen los ejes bilaterales durante la segmentación temprana en embriones de planarias no son estrictamente necesarios. En cambio, es tentador proponer que las desviaciones en la segmentación espiral canónica encontradas en este linaje son responsables por sí mismas de organizar el embrión radial que se alimenta de vitelo. La herencia asimétrica de ciertos determinantes maternos sería suficiente para desencadenar la especificación de los linajes tempranos encontrados en el embrión transitorio (es decir, células epidérmicas, células musculares y endoteliales de la faringe embrionaria, etc.), mientras que la ausencia de un organizador axial conduciría a la formación de la organización radial observada y mantendría a la mayoría de los blastómeros indiferenciados y vagando por el sincitio derivado del vitelo. En este escenario, la ingestión de las células vitelinas suministradas por la madre activaría los mecanismos de formación de patrones axiales, transformando la etapa radial primaria en un embrión bilateral.

Segregación de las capas germinales

Una de las preguntas fundamentales en la embriología de las planarias ha sido si se produce o no una verdadera gastrulación. Desde el trabajo de Stevens (1904), los autores han tendido a aceptar la ausencia de movimientos de gastrulación reales durante el desarrollo temprano. Sin embargo, ¿se ha perdido este evento embrionario clave en el linaje que conduce a las planarias? ¿Qué entendemos por "gastrulación"?

Según Gilbert (1985), la gastrulación es el evento del desarrollo en el que los movimientos celulares conducen a la formación de un embrión multicapa con su plan corporal básico. Este proceso está, por lo tanto, estrechamente vinculado a la especificación del endodermo y al desarrollo de la cavidad intestinal (Technau y Scholz 2003). Aunque los movimientos celulares responsables de la aparición de esta capa germinal interna son muy diversos entre los metazoos, el establecimiento del sitio de gastrulación y el destino celular endodérmico parece estar bastante conservado, siendo la vía canónica Wnt un regulador maestro de estos procesos (Martindale y Hejnol 2009). Además del endodermo, una capa germinal adicional, el mesodermo, se especifica durante el desarrollo temprano en los bilaterales, aunque no necesariamente durante la gastrulación (Technau y Scholz 2003). En nuestra opinión, la cuestión relativa a la ocurrencia de la verdadera gastrulación en la embriogénesis de las planarias debería centrarse en si los eventos que caracterizan cada gastrulación conocida (es decir, migración celular, formación de un embrión multicapa y establecimiento del plan corporal básico) están presentes en las planarias, y no en si es posible reconocer una etapa de gástrula estereotípica.

En este sentido, la motilidad celular es por sí misma una de las características más evidentes del desarrollo temprano de las planarias. La segmentación dispersa se caracteriza por el desprendimiento de los blastómeros, que ya no forman una mórula compacta, sino que se desplazan y difunden a través del sincitio derivado de la yema. A pesar de la situación anárquica que puede parecer a primera vista, se forman grupos definidos de blastómeros después de alcanzar un cierto número de células: los que forman la epidermis primaria, el primordio de la faringe embrionaria y los blastómeros que permanecen indiferenciados en el sincitio de la yema. La aparición de estos tres grupos principales está relacionada tanto con un cambio en la posición de las células en el sincitio como con la activación de un perfil molecular específico: la expresión de*b****catenina-1*** se limita a aquellas células que forman la faringe embrionaria, en las que se desarrollan mecanismos de diferenciación del mesodermo (expresión de***girar***y ***cadena pesada de miosina***) y la especificación del endodermo/intestino (expresión de ***zorroA***) están presentes (Martín-Durán***y otros.,***2010). Al mismo tiempo, aquellos blastómeros que no contribuyen a la formación de ninguna estructura transitoria siguen expresando marcadores de células madre, como ***vasija***y***Tudor***(Solana***y otros.,***2009, Solana y Romero 2009).

La formación de la faringe embrionaria también implica el desarrollo de una cavidad primaria (intestino transitorio) dentro del sincitio derivado del vitelo (Metschnikoff 1883, Iijima 1884, Hallez 1887, Martín-Durán***y otros.,*** 2010). Esta pequeña cavidad recogerá las células vitelinas ingeridas y es, de hecho, la futura cavidad intestinal del embrión definitivo y del adulto (Martín-Durán y Romero 2011). Por ello, no es extraño que los primeros embriólogos llamaran a este intestino transitorio arquenterón (Hallez 1887). Finalmente, la segmentación dispersa y la segregación de diferentes grupos de blastómeros están directamente relacionadas con el establecimiento de la organización embrionaria primaria, o embrión que se alimenta de vitelo, que como se mencionó anteriormente representa el "andamio" sobre el que se desarrollará el embrión definitivo después de la vitelogénesis.

ingestión.

Teniendo en cuenta todos estos argumentos, creemos que los estadios tempranos del desarrollo de las planarias (estadios 1 y 2) cumplen los requisitos mínimos para considerarlas como un verdadero modo divergente de gastrulación (Martín-Durán ***y otros.,*** 2010). Sin embargo, la idiosincrasia de los embriones de planarias hace que su gastrulación, paso obligatorio en el desarrollo de los metazoos, se aleje de la visión idealizada que muchos de nosotros tenemos a partir del estudio de los modelos animales más comunes.

Organogénesis

Históricamente, el estudio de la embriogénesis de las planarias se ha centrado en las etapas tempranas, ya que son las más llamativas. Aunque Bardeen (1902) comenzó a abordar la formación de los tipos celulares definitivos durante el desarrollo tardío, no fue hasta Le Moigne (1963, 1966) y más recientemente Cardona ***y otros.,*** (2005a,b) y Martín-Durán y Romero (2011) que se logró una imagen más precisa de la apariencia de los órganos finales. Como demuestran estos estudios, el desarrollo de órganos como el sistema digestivo, la musculatura, la epidermis y el sistema nervioso tiene lugar de forma difusa a lo largo de la banda germinal, en lugar de en tres blastemas ventrales discretos como propuso Fulinski (1916). A pesar de que los primeros rastros de diferenciación celular se observan en embriones de estadio 5, la expresión de genes involucrados en la especificación de estos tipos celulares ya se puede detectar durante el estadio 3-4 (Cardona ***y otros.,*** 2005b, Martín-Durán ***y otros.,*** 2010, Martín-Durán y Romero 2011). Esta observación, junto con el hecho de que las identidades axiales definitivas parecen especificarse durante estas mismas etapas, refuerza la noción de esta fase del desarrollo como una especie de metamorfosis, durante la cual gran parte de la arquitectura embrionaria primaria es remodelada o reemplazada por el plan corporal definitivo.

Desarrollo embrionario y regeneración

El estudio del desarrollo embrionario de las planarias es de gran importancia para comprender mejor los mecanismos celulares y moleculares implicados en la regeneración de las planarias adultas. La primera comparación entre estos dos procesos fue realizada por Hallez (1887), trabajando con ***D. lacteum*** Basándose en sus observaciones, concluyó que ambos eventos fueron aproximadamente similares, especialmente a nivel organísmico. Estudios posteriores demostraron la presencia de etapas similares en la formación de órganos como la faringe definitiva o los ojos (Le Moigne 1969, Cardona 2005a, Martín-Durán y Romero 2011, Martín-Durán ***y otros.,*** 2012). Sin embargo, la regeneración de las planarias adultas no es simplemente una recapitulación del desarrollo embrionario y deben notarse varias diferencias. En primer lugar, las comparaciones entre los dos eventos deben limitarse a las etapas 4-5 en adelante del desarrollo embrionario, ya que este es el momento en que se forman órganos y estructuras equivalentes. Teniendo esto en cuenta, se pueden rastrear claras similitudes, tanto a nivel celular como molecular, entre el desarrollo embrionario de los órganos definitivos y su regeneración adulta. Asimismo, los mecanismos que controlan el establecimiento del plan corporal definitivo y la polaridad en embriones y regenerantes parecen ser similares. En segundo lugar, el punto de partida para cada uno de estos dos procesos es completamente diferente. Mientras que todo el embrión definitivo se forma a partir de un conjunto difuso de células indiferenciadas ubicadas en la banda germinal, la regeneración de una estructura debe involucrar la identificación de la parte del cuerpo faltante, que luego debe integrarse en un patrón corporal preexistente. De esta manera, la regeneración tiene que ser mucho más reguladora que la embriogénesis en las planarias. Por lo tanto, no solo la regeneración de las planarias dependen de la presencia de células madre pluripotentes (neoblastos) o del mantenimiento de mecanismos de modelado en el adulto, pero también de mecanismos necesarios para evaluar lo que debe regenerarse, que aparentemente están ausentes durante la embriogénesis normal.

Conclusiones y direcciones futuras

En este artículo se han revisado los trabajos más relevantes sobre la embriogénesis de las planarias. Si se consideran desde un punto de vista histórico, es evidente que varias preguntas han intrigado recurrentemente a los investigadores que trabajan con embriones de planarias. ¿Cómo evolucionó la segmentación dispersa y cómo se controla? ¿Es homóloga a la gastrulación verdadera? Y, por lo tanto, ¿hay una verdadera segregación de las capas germinales? ¿Cómo y cuándo se establecen los ejes bilaterales en el desarrollo embrionario? ¿Cómo se conectan la embriogénesis y la regeneración en las planarias? ¿Cómo se desarrollan los órganos definitivos? La adopción de un enfoque comparativo, utilizando tanto los patrones de expresión génica de los genes de desarrollo conservados evolutivamente como la morfología, ha revelado similitudes entre la regeneración de las planarias adultas y las etapas tardías del desarrollo, así como entre la segmentación ancestral en cuarteto-espiral y las etapas tempranas divergentes de la embriogénesis. Sin embargo, se deben realizar esfuerzos para desarrollar metodologías funcionales con el fin de validar muchas de las hipótesis planteadas y aumentar nuestro conocimiento de este interesante modo divergente de desarrollo al nivel de otros sistemas embrionarios emergentes y la regeneración de las planarias adultas.

Expresiones de gratitud

Agradecemos a M. Vila-Farré y a los miembros de los laboratorios de F. Cebrià y E. Saló por su apoyo y sus valiosos comentarios sobre este manuscrito. JMM-D fue becario FPU del MICINN (Ministerio de Ciencia e Innovación), España. FM fue becario APIF de la Universidad de Barcelona, España. Este trabajo recibió el apoyo de MEC BFU-2007-63209, España, a RR.

Referencias

ACCONCI C (1919). Osservazioni sullo sviluppo delle planarie d'acqua dolce. ***Cápsula Primer Zoológico de la Universidad de Palermo*** 1:49-76.

ANDERSON JM, JOHANN JC (1958). Algunos aspectos de la biología reproductiva en la turbelario triclado de agua dulce, ***Cura foremanii. Toro biológico*** 115:375-482.

BARDEEN CR (1902). Desarrollo embrionario y regenerativo en planarias. ***Biología Toro*** 3:262-288.

BENAZZI M (1950). Ginogenesi in tricladi di acqua dolce. ***Cromosoma*** 3:474-482

BENAZZI M, GREMIGNI V (1982). Biología del desarrollo de los turbelarios Triclad. En ***Biología del desarrollo de los invertebrados de agua dulce*** (Ed. FW Harrison y RR Cowden). Alan R. Liss, Nueva York, págs. 151-211.

CARDONAA, HARTENSTEIN V, ROMERO R (2005a). El desarrollo embrionario del triclad ***Schmidtea policroa***. ***Genes de desarrollo Evol*** 215:109-131.

CARDONA A, FERNÁNDEZ-RODRÍGUEZ J, SOLANA J, ROMERO R (2005b). Un ***en el lugar*** Protocolo de hibridación para embriones de planarias: monitoreo de la expresión del gen de la cadena pesada de miosina. ***Genes de desarrollo Evol*** 215:482-488.

CARDONAA, HARTENSTEINV, ROMEROR(2006). Embriogénesis temprana de la planaria: una larva críptica que se alimenta de recursos maternos. ***Genes de desarrollo Evol*** 216:667-681.

CARLÉ R (1935). Beiträge zur embriologie der landplanarien. I. Fruhentwicklung, bau und junktion des embrionalfaringe. ***Zoomorfología*** 29:527-558.

CEBRIÀF,ADELLT, SALÓE (2010). Medicina regenerativa: lecciones de los planarios. En ***Células madre, medicina regenerativa y cáncer*** (Ed. SR Singh). Nova Science Publishers, Hauppauge, págs. 29-68.

CURTIS WC (1902). La historia de vida, la fisión normal y los órganos reproductivos de ***Planaria maculata***. ***Procedimiento de la Sociedad Histórica Nacional de Boston*** 30:515-559.

CURTIS WC (1905). Ubicación de la faringe permanente en el embrión de planaria.

Zoológico Anz29:169-175.

FREEMAN G, LUNDELIUS JW (1992). Implicaciones evolutivas del modo de D Especificación del cuadrante en celomados con segmentación en espiral.***J evol Biol***5:205-247.

FULINSKI B (1914). Die entwiklungesgichte von***Dendrocoelum lacteum***Primera parte: Die erste entwiklungsphase vom ei bis zur embrionalpharynx bildung.***Bull Acad Sci Cracovie, Clase de Ciencias Matemáticas Nativas, Ser B***8/9:147-190.

FULINSKI B (1916). Die keimblätterbildung bei***Dendrocoelum lacteum***Primero.***Zoológico Azotado por el viento***47:380-400.

FULINSKI B (1938). Zur embrionalpharynxfrageder Trikladiden.***Zool Polon***2:185-207.

GALLENI L, GREMIGNI V (1982). Fecundación, desarrollo y cuidados parentales en Turbelarios. En***Biología reproductiva de los invertebrados***(Editores. KG Adiyodi y RG Adiyodi). vol. 4. J. Wiley, Chichester, págs. 63-89.

GILBERT, ciencia ficción (1985).***Biología del desarrollo***. Sinauer Associates, Inc., Sunderland, Massachusetts.

GIRIBET G, DISTEL DL, POLZ M, STERRER W, WHEELER WC (2000). tripublástico Relaciones con énfasis en los acelomados y la posición de Gnathostomulida, Cycliophora, Plathelminthes y Chaetognatha: un enfoque combinado de secuencias de ADNr 18S y morfología.***Biología del sistema***49:539-562.

HARTENSTEIN V, EHLERS U (2000). El desarrollo embrionario del rabdocele gusano plano***Mesostoma lingua***((Abildgaard, 1789).***Genes de desarrollo Evol***210:399-415.

HALLEZ P (1887). Embriogenia de dendroceles de agua dulce.***Memoria de la Sociedad Científica de Lille***16:1-107.

HEJNOL A (2010). Un giro en el tiempo: la evolución de la escisión en espiral a la luz de filogenia animal.***Bioquímica integral***50:695-706.

HEJNOL A, OBST M, STAMATAKIS A, OTT M, ROUSE GW, EDGECOMBE GD, MARTINEZ P, BAGUÑÀ J, BAILLY X, JONDELIUS U, WIENS M, MÜLLER WEG, SEAVEREC, WHEELERWC, MARTINDALEMQ, GIRIBETG, DUNNCW (2009). Evaluación de la raíz de animales bilaterales con métodos filogenómicos escalables. ***Proc Biol Sci B***276: 4261-4270 .

IIJIMA I (1884). Untersuchungen über den Bau un die Entwiklungesgichte der SubWasser-Drendocoelen (Tricladen).***Con Zool***40:359-464.

ISHII S, SAKURAI T (1988). Observaciones mediante microscopio electrónico de barrido y transmisión. Observaciones sobre el desarrollo epidérmico en el embrión del triclad de agua dulce. ***Bdellocephala brunnea***.***Zoológico de Fortschr***36:291-295.

KNAPPERT B (1865). Bijdragen tot de ontwikkelingsgeschiedenis der zoetwater-planaria.***NatuurkVerhuitgdhProvUtrechtschGenootschapvKunstenenWetens***.

KNAPPERT B (1866). Embriogenia de las planarias de agua dulce.***Arch Neerl, D. Ciencia y Tecnología y natural (Haarlem)***1:271-272.

KÖLLIKER A (1846). Ueber die contractilen Zellen der Planarienembryonen.***Arco Urgencia natural***12:291-295.

KOSCIELSKI B (1964). Poliembrionía en***Dendrocoelum lacteum***De Müller.***Yo Embrión exp Morfosis***12:633-636.

KOSCIELSKI B (1966). Investigaciones citológicas y citoquímicas en el embrión. desarrollo de***Dendrocoelum lacteum***De Müller.***Zoológico Pol***16:83-102.

KOSCIELSKI B (1967). Estudios experimentales sobre el desarrollo embrionario de***Dendrocelio lacteo***De Müller.***Experiencia***23:212-214.

LE MOIGNE A (1963). Estudio del desarrollo embrionario de***Policelis negra***(Turbellario, Triclade).***Toro Soc Zool Fr***88:403-422.

LE MOIGNE A (1966). Estudio de desarrollo embrionario y búsquedas en les células de regeneración en el embrión de la planaire***Policelis negra***(Turbellario, Triclade).***J Embrión exp Morfosis***15:39-60.

LE MOIGNEA (1969). Estudio de desarrollo y regeneración de embriones Delaware***Policelis negra***(Ehr.) y***Policelis tenuis***(Iijima), Turbellariés Triclades.***Embrión de Ann***2:51-69.

LITTLEWOOD DTJ (2008). Sistemática de platelmintos y aparición de nuevos personajes.***Parásito***15:333-341.

MARTÍN-DURÁN JM, AMAYA E, ROMERO R (2010). Especificación de la capa germinal y patrones axiales en el desarrollo embrionario de la planaria de agua dulce ***Schmidtea policroa***.***Biología del desarrollo***340:145-158.

MARTÍN-DURÁNJM, ROMEROR (2011). Implicaciones evolutivas de la morfogénesis y el patrón molecular del intestino ciego en la planaria***Schmidtea policroa***. ***Biología del desarrollo***352:164-176.

MARTÍN-DURÁN JM, MONJO F, ROMERO R (2012). Morfológico y molecular Desarrollo de los ojos durante la embriogénesis de la planaria de agua dulce Schmidtea polychroa.***Genes de desarrollo Evol***222:45-54.

MARTINDALE MQ, DOE CQ, MORRILL JB (1985). El papel de la relación entre animales y vegetales interacción con respecto a la determinación de la polaridad dorsoventral en la espiral de división igual, ***Lymnaea palustris***.***Wilhelm Roux, arquitecto y desarrollador biológico***194:281-295

MARTINDALE MQ, HEJNOL A (2009). Una perspectiva de desarrollo: cambios en la posición del blastoporo durante la evolución bilateral.***Célula de desarrollo***17:162-174.

MATTIESEN E (1904). Ein beitrag zur embriologie der Süsswasserdendrocoelen. ***Con Zool***77:274-361.

METSCHNIKOFF E (1883). La embriología de***Planaria policroa***.***Con Zool*** 38:331-354.

NIELSENC (2010). Algunos aspectos del desarrollo espiral.***Acta Zoológica***91:20-28.

SAKURAI T (1991). Un estudio con microscopio electrónico de la formación de sincitios durante Desarrollo embrionario temprano de la planaria de agua dulce***Bdellocephala brunnea*** . ***Hidrobiología***227:113-118.

SAKURAI T, ISHII S (1995). Un estudio ultraestructural de la formación de la epidermis primaria en ***Bdellocephala brunnea***(Turbelaria; Tricladida).***Desarrollo de reproducción de Invertebr***28:77-85.

SEILERN-ASPANG F (1956). Frühentwicklung un triclado marinero (***Procedentes lobata***(O. Schmidt).***Arco de Wilhelm Roux***148:589-595.

SEILERN-ASPANGF (1957). Poliembrionía como anormal entwicklung bei***Procedentes lobata***Turbellaria (Turbellaria) es una especie de planta herbácea perenne perteneciente a la familia Turbellaceae.***Zoológico Anz***159:187-193.

SEILERN-ASPANG F (1958). Entwicklungsge schichtliche studien an paludicolen Tri-cargado.***Arco de Wilhelm Roux Entwickl Mech Org***150:425-480.

SHIBATA N, ROUHANA L, AGATA K (2010). Disección celular y molecular de Células madre somáticas adultas pluripotentes en planarias.***Diferencias en el crecimiento del desarrollo***52:27-41.

SOLANA J, LASKO P, ROMERO R (2009).***Spoltud-1***es un componente del cuerpo cromátido necesario para la autorrenovación a largo plazo de las células madre del planario.***Biología del desarrollo***328:410-421.

SOLANA J, ROMERO R (2009).***Spolvlg-A***es un ARN DEAD-box relacionado con DDX3/PL10 helicasa expresada en blastómeros y células embrionarias en el desarrollo embrionario de planarias.***Revista Internacional de Ciencias Biológicas***5:64-73.

STEVENS NM (1904). Sobre las células germinales y la embriología de***Planaria simplicissima***.***Proc Acad Nat Sci Filadelfia***56:208-220.

TECHNAU U, SCHOLZ CB (2003). Origen y evolución del endodermo y el mesodermo. ***Int J. Desarrollo Biológico***47:531-539.

VAN DAM WI, DOHMEN MR, VERDONK NH (1982). Localización de genes morfogenéticos determinantes en un citoplasma especial presente en el lóbulo polar de***Bitinia tentaculata***.***Wilhelm Roux, arquitecto y desarrollador biológico***191:371-377.

MERMELADA DE VAN DEN BIGGELAAR, GUERRIER P (1979). Polaridad dorsoventral y Determinación de mesentoblastos como resultado concomitante de interacciones celulares en el molusco***Rótula vulgata***.***Biología del desarrollo***68:462-471.

WESTBLAD E (1948). Studien über skandinavische Turbellaria Acoela. v.***Zoológico del Arca*** 41A:1-82.

WILSON EB (1904). Estudios experimentales sobre la localización germinal. I. El germen regiones en el huevo de***Dentalium.J Exp Zool***1:1-72.

Lecturas relacionadas adicionales, publicadas previamente en *Revista Internacional de Biología Molecular.*

Regeneración de planarias: logros y direcciones futuras después de 20 años de investigación
Emili Saló, Josep F. Abril, Teresa Adell, Francesc Cebriá, Kay Eckelt, Enrique Fernández-Taboada, Mette Handberg-Thorsager, Marta Iglesias, M Dolores Molina y Gustavo Rodríguez-Esteban
Revista Internacional de Biología del Desarrollo (2009) 53: 1317-1327

De las planarias a los mamíferos: las múltiples caras de la regeneración
Jerzy Moraczewski, Karolina Archacka, Edyta Brzoska, Maria-Anna Ciemerych, Iwona Grabowska, Katarzyna Janczyk-Ilach, Wladyslawa Streminska y Malgorzata Zimowska Int. J. Dev. Biol. (2008) 52: 219-227

Caracterización de nuevos genes expresados específicamente en los órganos sexuales de la planaria Dugesia ryukyuensis
Sumitaka Hase, Emiko Kashiwagi, Kazuya Kobayashi, Motonori Hoshi y Midori Matsumoto Int. J. Dev. Biol. (2007) 51: 345-349

Regeneración de la faringe de las planarias revelada por la expresión de la cadena pesada A de miosina Tomoko Sakai, Kentaro Kato, Kenji Watanabe y Hidefumi Orii Int. J. Dev. Biol. (2002) 46: 329-332

Determinación regional distoproximal y regeneración intercalar en planarias, revelada por la interrupción de la regeneración inducida por ácido retinoico
R Romero y D Bueno
Revista Internacional de Biología del Desarrollo (2001) 45: 669-673

Factor de impacto ISI de 5 años (2010) = 2,961